

Extracting agents for pD(-)-3-hydroxybutyric acid

Patent Number: ☒ US4968611

Publication date: 1990-11-06

Inventor(s): KROATH HANS DR (AT); ESTERMANN ROBERT (AT); KLOIMSTEIN ENGELBERT ING (AT);
TRAUSSNIG HEINZ DIPL ING (AT)

Applicant(s): DANUBIA PETROCHEMIE (AT)

Requested Patent: ☒ JP2069187

Application Number: US19890370367 19890622

Priority Number (s): AT19880001759 19880707

IPC Classification: C12P7/42; C12P7/62; G08G63/06

EC Classification: C08G63/90, C12P7/62A

Equivalents: AT175988, ☒ AT390068B, ☒ DE3823754, DE58908825D, ☒ EP0355307, A3, B1, ES2065945T

Abstract

Use of diols or acetalized triols, di- or tricarboxylic acid esters, mixtures of dicarboxylic acid esters or butyrolactone as extracting agents for obtaining pure polyesters or copolyesters containing 3-hydroxybutyric acid units.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報(A)

平2-69187.

⑫ Int. Cl.⁵

C 12 P 7/64
C 08 G 63/89

識別記号

NLT

庁内整理番号

6926-4B
6904-4J

⑬ 公開 平成2年(1990)3月8日

審査請求 未請求 請求項の数 6 (全6頁)

⑭ 発明の名称 ポリ-D-(-)-3-ヒドロキシ酪酸用抽出剤

⑮ 特 願 平1-173161

⑯ 出 願 平1(1989)7月6日

優先権主張 ⑰ 1988年7月7日 ⑱ オーストリア(AT) ⑲ A1759/88

⑳ 発 明 者 ハインツ・トラウスニ オーストリア国、フローンライテン、アム・グリュンアン
ツヒ ゲル、53

㉑ 発 明 者 エンゲルベルト・クロ オーストリア国、エフェルディング、シフェルブラッツ、
イムシュタイン 22

㉒ 出 願 人 ベトロヒエミー・ダヌ オーストリア国、シュウエツハト・マンスウエルト、ダヌ
ビア・ゲゼルシャフ ビアストラーセ、21-25
ト・ミト・ベシユレン
クテル・ハフツング

㉓ 代 理 人 弁理士 江崎 光好 外1名
最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

ポリ-D(-)-3-ヒドロキシ酪酸用抽出剤

2. 特許請求の範囲

- 1) ジオール又はアセタール化されたトリオール、ジ-又はトリ-カルボン酸エステル、ジカルボン酸エステルの混合物又はブチロラクトンを3-ヒドロキシ酪酸単位を含有する純粋なポリエステル又はコポリエステルの取得用抽出剤として使用する方法。
- 2) 抽出剤としてプロパンジオールを使用する請求項1記載の使用法。
- 3) 抽出剤としてグリセリンホルマルを使用する請求項1記載の使用法。
- 4) 抽出剤としてコハク酸ジメチル-又はコハク酸ジエチルエステルを使用する請求項1記載の使用法。
- 5) 抽出剤としてコハク酸-、グルタル酸-及びアジピン酸ジメチルエステルから成る混合物を使用する請求項1記載の使用法。

6) 抽出剤としてブチラクトンを使用する請求項1記載の使用法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、特定のカルボン酸エステル及び多価アルコールを3-ヒドロキシ酪酸単位を含有する純粋なポリエステル又はコポリエステルの取得用抽出剤として使用する方法に関する。

ポリ-D(-)-3-ヒドロキシ酪酸(ポリ-HB)は、多くの微生物のエネルギー及び炭素用貯蔵物質として細胞内部で形成され、蓄積され、生物学的に分解可能である熱可塑性性質を有するポリエステルである。ポリ-HBをたとえばヨーロッパ特許公開第0149744号又は第0144017号明細書に記載された処理方法に従って良好な収量で問題なく製造することができる。ポリ-HBのポリエステル、たとえば3-ヒドロキシ酪酸-及び3-ヒドロキシバレリン酸単位又は他の酸単位から成るコポリエステルは、ヨーロッパ特許公開第0052459号明細書に従って改良された加工処理性質をサーモプラスティックとしての使用で純粋なポリ-HBとして示さねばなら

ない。この様なコポリエステルの製造方法はヨーロッパ特許公開第0069497号明細書中に開示されている。

ポリエステルは生物学的製造の後に微生物の細胞体中に存在し、次いでこれを細胞体から抽出しなければならない。従来これには著しい困難がある。

米国特許第3036959号又は第3,044,942号明細書中に、良好な収量は微生物の細胞体からポリエステルを抽出する場合本来の抽出段階に、細胞の破裂への付加的な工程—ここで細胞をアセトンで処理する—を続けた時しか達成され得ないことが記載されている。抽出剤としてピリジン又はメチレンクロリドを使用しなければならない。

米国特許第3,275,610号明細書中に抽出剤としてクロロホルムが記載されている。しかし良好な収率を得るために、細胞を極めて長い時間抽出剤で処理しなければならない。しかし長い処理によってポリ- β の脱重合を生じるので、この方法で悪い収率又はポリ- β の分子量の減少を受け入れ

ねばならない。

米国特許第4,310,684号明細書中に、抽出に対してその他のハロゲン化された炭化水素が提案されている。しかしハロゲン化された炭化水素は全部有毒であり、これを用いて処理しなければならない人に危険であり、更に環境を汚染する。その上この場合単離されたポリ- β 中にこの溶剤を残存含有することは避けられないことを考慮に入れねばならない。

したがって米国特許第4,101,533号明細書には環状炭酸エステル、たとえばエチレン-又はプロピレンカーボナートがポリヒドロキシ酸に対する溶剤として提案されている。しかしこの溶剤はこれを使用しなければならない熱い状態で極めて腐食性であり、装置の栓及びパッキングを腐食する。ポリ- β の抽出での良好な収率を得るために、細胞をエチレン-又はプロピレンカーボナートで比較的長く処理することが必要であるが、この際ポリ- β の又はそのコポリエステルの分子量の特

そのコポリエステルをサーモブラストに使用するのに不利である。

これに対して本発明者はポリ- β 及びそのコポリエステルの簡単かつ問題のない抽出のための溶剤を見出した。抽出剤としてこれを使用した場合上記欠点は回避され、その際ポリエステル又はコポリエステルは少なくとも98%の予期されない高い純度で生じる。

したがって本発明の対象は、

ジオール又はアセタール化されたトリオール、ジ-又はトリ-カルボン酸エステル、ジカルボン酸エステルの混合物又はブチロラクトンを3-ヒドロキシ酸単位を含有する純粋なポリエステル又はコポリエステルの収得用抽出剤として使用する方法である。

本発明によるジオールは、脂肪族、直鎖状又は分枝状、C-原子数2~8の鎖長を有するジオールであってよい。この場合脂肪族鎖は場合によりメチル基によって置換されていてよい窒素原子1又は2個によって中断されていてよい。好ましいジ

オールはたとえばプロパン-、ブタン-及びヘキサジオール、エチルヘキサジオール、N-メチルジエタノールアミン、N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)-1,3-ジアミノ-プロパンである。但しプロパジオールが特に好ましい。本発明によるアセタール化されたトリオールはグリセリンホルマル又は2,2-ジメチル-4-ヒドロキシメチル-1,3-ジオキソランが好ましい。この際グリセリンホルマルが特に好ましい。

本発明によるジカルボン酸エステルの酸成分は、直鎖状又は分枝状、飽和又は不飽和、脂肪族又は芳香族、C-原子数2~8のジカルボン酸から又はアゾジカルボン酸から成る。この場合脂肪族鎖は1又は2個のヒドロキシ基によって又はアセチル基によって置換されていてよい。ジカルボン酸エステルのアルコール成分として直鎖状又は分枝状アルキルアルコールが挙げられる。例としてメチル-、エチル-、プロピル-、ブチル-、ペンチル-及びヘキシル-アルコール及びその異性体が挙げられる。本発明によるトリカルボン酸エス

ルはクエン酸エステル—この際アルコール成分としてたとえば上記アルコールが挙げられる—又はトリアセチンである。

ジ-又はトリ-カルボン酸エステルは、対称又は非対称、好ましくは対称エステルであってよい。好ましいジカルボン酸エステルは、たとえばシェウ酸ジエチルエステル、マロン酸ジメチル-及び-ジエチルエステル、コハク酸ジメチル-及び-ジエチルエステル、グルタル酸ジメチルエステル、アジピン酸ジメチルエステル、エチルマロン酸ジエチルエステル、マレイン酸ジメチルエステル、フマル酸ジブチルエステル、フタル酸ジリチルエステル、酒石酸ジエチル-及び-ジブチルエステル、アセチルコハク酸ジメチルエステル及びアゾジカルボン酸ジイソプロピルエステルであり、この際コハク酸ジメチル-及び-ジエチルエステルが特に好ましい。

本発明による抽出剤は上記ジカルボン酸エステルの混合物であってもよい。特に好ましい混合物は好ましくは1:4:1の割合でコハク酸-、グルタ

れるからである。その後ポリエステルを含有する分離された溶液を冷却する。この際ポリエステルを完全にゲル化する又はポリエステルを沈殿剤、たとえば少量の水、メタノール、エタノール又はその混合物の添加によって晶出する。ポリエステルの単離は、ゲルから液体を濾過、吸引濾取、遠心分離又は圧搾して行われる。単離された沈殿を水、メタノール、エタノール、アセトン又はその混合物で後洗滌する。その際沈殿するゲルが晶出する。次いで乾燥する。ポリエステルの乾燥は、常法、たとえば乾燥機中で行われる。

好ましい実施形態に於て、微生物の細胞体を発酵槽から遠心分離し、プロパンジオール、グリセリンホルマル、コハク酸ジメチル-又はコハク酸ジエチルエステル、コハク酸-、グルタル酸-及びアジピン酸ジメチルエステルから成るエステル混合物又はブチロラクトン中で110~140℃に加熱し、15分この温度で攪拌する。不溶性細胞体を加熱された吸引濾過器で分離し、熱い溶液を冷却する。この場合ポリエステルが完全にゲル化す

ル酸-及びアジピン酸-ジメチルエステルから成る。ブチロラクトンとはγ-ブチロラクトンである。

純粋なポリエステル又はコポリエステルを得るために、3-ヒドロキシ酪酸単位を含有するポリエステル又はコポリエステルを含有する微生物の細胞体を常法で、好ましくは発酵槽溶液の遠心分離によって発酵槽から又は発酵槽溶液から単離する。分離された細胞体を常法で乾燥する、あるいは細胞体を水で湿めらして抽出工程で使用する。細胞体を水で湿めらして使用するのが好ましい。この際細胞体の水分含有率は一般に40~80重量%である。発酵槽から単離された細胞体を本発明による抽出剤の1つ中で攪拌し、約100~150℃の温度に加熱し、5~20分この温度で攪拌する。次いで不溶性細胞体から熱い抽出剤—これはポリエステルを溶解含有する—を分離する。分離は常法で行うことができる。この場合加熱された吸引濾過器を使用するのが有利である。というのは分離がこの方法で驚くべきことに問題なくかつ簡単に行わ

る。しかし溶液に沈殿剤、たとえば水、エタノール、メタノール、アセトン又はこれらの混合物を加え、この際ポリエステルが晶出する。ゲルを吸引濾取により単離する。この場合液体を場合により付加的に圧搾し、残留物を沈殿剤、たとえば水、エタノール、メタノール、アセトン又はその混合物と共に攪拌して晶出させる。結晶性沈殿を吸引濾取し、乾燥する。抽出剤は沈殿剤に比して常に高い沸点を有するので、これを沈殿剤からたとえば蒸留によって回収し、沈殿剤及び抽出剤として常に再び新たに抽出に使用することができる。

本発明による抽出剤の使用は、ポリエステルを少なくとも98%の予期されない高純度で極めて良好な収率で生じる。この際ポリエステルの非常に少ない脱重合しか生じない、及び抽出は簡単にかつ問題なく実施することができる。したがってこれは技術的進歩である。

例 1

発酵槽溶液の遠心分離によって得られ、細胞乾燥重量に対して水分含有率60重量%及びポリ-110-

含有率78%を有する、発酵槽からの水湿潤性細胞体100gを1,2-プロパンジオール360gと10分140℃で攪拌する。不溶性細胞体を加熱された吸引濾過で分離した後、溶液を冷却する。この場合ポリ-HBが完全にゲル化する。沈殿したゲルを吸引濾取し、水と十分に攪拌し、後洗滌する。この際ゲルが晶出し、結晶性沈殿を吸引濾取し、乾燥する。その際純度99.1%及び分子量585000のポリ-HB 24.6g

(理論値の79%に相当)が得られる。この際細胞物質中のポリ-HB 分子量は650,000である。

例 2

発酵槽溶液の遠心分離によって得られ、細胞乾燥重量に対して水分含有率60重量%及びポリ-HB-含有率65%を有する、発酵槽からの水湿潤性細胞体25gをグリセリンホルマール390gと15分120℃で攪拌する。不溶性細胞体を加熱された吸引濾過で分離した後、溶液を冷却する。この場合ポリ-HBが完全にゲル化する。沈殿したゲルを吸引濾取し、水とアセトンで後洗滌する。この際ゲルが晶出し、結晶性沈殿を吸引濾取し、乾燥する。その際純度

体25gをコハク酸ジメチルエステル390gと15分110℃で攪拌する。不溶性細胞体を加熱された吸引濾過で分離した後、溶液を冷却し、メタノールを加える。この場合ポリ-HBが沈殿する。析出した沈殿を吸引濾取し、水とアセトンで後洗滌し、乾燥する。その際純度99.9%及び分子量420,000のポリ-HB 5.3g(理論値の86%に相当)が得られる。この際細胞物質中のポリ-HB 分子量は470,000である。

例 5

発酵槽溶液の遠心分離によって得られ、細胞乾燥重量に対して水分含有率60重量%及びポリ-HB-含有率62%を有する、発酵槽からの水湿潤性細胞体25gを割合1:4:1でコハク酸ジメチルエステル:グルタル酸ジメチルエステル:アジピン酸ジメチルエステルから成る混合物390gと15分120℃で攪拌する。不溶性細胞体を加熱された吸引濾過で分離した後、溶液を冷却し、エタノールを加える。この場合ポリ-HBが沈殿する。沈殿を吸引濾取し、エタノールで後洗滌し、乾燥する。その際純度

99.7%及び分子量700000のポリ-HB 5.5g(理論値の85%に相当)が得られる。この際細胞物質中のポリ-HB 分子量は780,000である。

例 3

発酵槽溶液の遠心分離によって得られ、細胞乾燥重量に対して水分含有率60重量%及びポリ-HB-含有率62%を有する、発酵槽からの水湿潤性細胞体25gをコハク酸ジエチルエステル330gと15分110℃で攪拌する。不溶性細胞体を加熱された吸引濾過で分離した後、溶液を冷却する。この場合ポリ-HBが完全にゲル化する。沈殿したゲルを吸引濾取し、水とエタノールで後洗滌する。この際ゲルが晶出し、結晶性沈殿を吸引濾取し、乾燥する。その際純度100%及び分子量400,000のポリ-HB 5.6g(理論値の90%に相当)が得られる。この際細胞物質のポリ-HB 分子量は470,000である。

例 4

発酵槽溶液の遠心分離によって得られ、細胞乾燥重量に対して水分含有率60重量%及びポリ-HB-含有率62%を有する、発酵槽からの水湿潤性細胞

98.9%及び分子量725000のポリ-HB 5.5g(理論値の89%に相当)が得られる。この際細胞物質中のポリ-HB 分子量は780,000である。

例 6

発酵槽溶液の遠心分離によって得られ、細胞乾燥重量に対して水分含有率60重量%及びポリ-HB-含有率60%を有する、発酵槽からの水湿潤性細胞体125gをブチロラクトン450gと15分110℃で攪拌する。不溶性細胞体を加熱された吸引濾過で分離した後、溶液を冷却する。この場合ポリ-HBが完全にゲル化する。沈殿したゲルを吸引濾取し、水とアセトンで後洗滌する。この際ゲルが晶出し、結晶性沈殿を吸引濾取し、乾燥する。その際純度90%及び分子量735000のポリ-HB 28g(理論値の90%に相当)が得られる。この際細胞物質中のポリ-HB 分子量は780,000である。

例 7

発酵槽溶液の遠心分離によって得られ、細胞乾燥重量に対して水分含有率60重量%及びコポリエステル含有率77.3%を有する、発酵槽からの水湿

潤性細胞体50gをコハク酸ジメチルエステル400gと15分110℃で攪拌する。この際コポリエステルは98.1% D(-)-3-ヒドロキシ酪酸-及び1.9%3-ヒドロキシバレリアン酸-単位から成る。不溶性細胞体を加熱された吸引濾過で分離した後、溶液を冷却し、コポリエステルをメタノールの添加によって沈殿する。析出した沈殿を吸引濾取し、水とアセトンで後洗滌する。その際100%及び分子量770,000のコポリエステル12.3g(理論値の80%に相当)が得られる。このコポリエステルは98.1% D(-)-3-ヒドロキシ酪酸-及び1.9%3-ヒドロキシバレリン酸-単位から成る。この際細胞物質中のコポリエステルの分子量は800000である。

例 8

発酵槽溶液の遠心分離によって得られ、細胞乾燥重量に対して水分含有率60重量%及びコポリエステル含有率77.3%を有する、発酵槽からの水濡潤性細胞体50gを割合1:4:1でコハク酸ジメチルエステル:グルタル酸ジメチルエステル:アジピン酸ジメチルエステルから成る混合物400gと110

って測定する。

代理人 江 崎 光 好

代理人 江 崎 光 史

℃で15分攪拌する。この場合98.1% D(-)-3-ヒドロキシ酪酸-及び1.9%3-ヒドロキシバレリアン酸-単位から成る。不溶性細胞体を加熱された吸引濾過で分離した後、溶液を冷却し、コポリエステルをメタノールの添加によって沈殿する。析出したゲルを吸引濾取し、水とアセトンで後洗滌し、乾燥する。その際純度100%及び分子量785,000のコポリエステル13.9g(理論値の90%)が得られる。このコポリエステルは98.1% D(-)-3-ヒドロキシ酪酸-及び1.9%3-ヒドロキシバレリアン酸-単位から成る。この際細胞物質中のコポリエステル分子量は800,000である。

例に於てポリヒドロキシ酪酸-測定はブラウンエッグ(Braunegg)等、*Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 6, 29~37(1978)の方法に従って行われる。

分子量の測定はゲルクロマトグラフィー(PL Microgel M, 60cmカラム、クロロホルム中1g/2、1ml/分、ポリスチロールスタンダード、密度検出)によって行われる。水含有率を乾燥減量によ

第1頁の続き

⑦発明者	ハンス・クロアト	オーストリア国、リンツ、ミッテルライテンウエーク、10 ペー
⑧発明者	ローベルト・エステル マン	オーストリア国、リンツ、ライシエックストラーセ、25